



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

(Kapitel II des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens)

REC'D 03 OCT 2005
WIPO PCT

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 51962 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Formblatt PCT/PEA/416	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP2004/052109	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 09.09.2004	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 25.09.2003
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N21/82, G01N21/59, G01N33/543		
Anmelder ODEFEY, Constantin, et al.		
<p>1. Bei diesem Bericht handelt es sich um den internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, der von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde nach Artikel 35 erstellt wurde und dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt wird.</p> <p>2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.</p> <p>3. Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; diese umfassen</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> (an den Anmelder und das Internationale Büro gesandt) insgesamt 4 Blätter; dabei handelt es sich um</p> <p><input type="checkbox"/> Blätter mit der Beschreibung, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit Berichtigungen, denen die Behörde zugestimmt hat (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsvorschriften).</p> <p><input type="checkbox"/> Blätter, die frühere Blätter ersetzen, die aber aus den in Feld Nr. 1, Punkt 4 und im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde eine Änderung enthalten, die über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgeht.</p> <p>b. <input type="checkbox"/> (nur an das Internationale Büro gesandt) insgesamt (bitte Art und Anzahl der/des elektronischen Datenträger(s) angeben), der/die ein Sequenzprotokoll und/oder die dazugehörigen Tabellen enthält/enthalten, nur in computerlesbarer Form, wie im Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll angegeben (siehe Abschnitt 802 der Verwaltungsvorschriften).</p>		
<p>4. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. I Grundlage des Bescheids</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. II Priorität</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. III Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. IV Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VI Bestimmte angeführte Unterlagen</p> <p><input type="checkbox"/> Feld Nr. VII Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung</p>		
Datum der Einreichung des Antrags 24.03.2005	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 30.09.2005	
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Thumb, W Tel. +49 89 2399-7350 	

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/052109

Feld Nr. I Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Sprache** beruht der Bericht auf der internationalen Anmeldung in der Sprache, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
 - ☐ Der Bericht beruht auf einer Übersetzung aus der Originalsprache in die folgende Sprache, bei der es sich um die Sprache der Übersetzung handelt, die für folgenden Zweck eingereicht worden ist:
 - ☐ internationale Recherche (nach Regeln 12.3 und 23.1 b))
 - ☐ Veröffentlichung der internationalen Anmeldung (nach Regel 12.4)
 - ☐ internationale vorläufige Prüfung (nach Regeln 55.2 und/oder 55.3)
2. Hinsichtlich der **Bestandteile*** der internationalen Anmeldung beruht der Bericht auf *(Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt)*:

Beschreibung, Seiten

1-4, 6-23 in der ursprünglich eingereichten Fassung
5 eingegangen am 24.03.2005 mit Schreiben vom 23.03.2005

Ansprüche, Nr.

1-11 eingegangen am 24.03.2005 mit Schreiben vom 23.03.2005

Zeichnungen, Blätter

1/3-3/3 in der ursprünglich eingereichten Fassung

☐ einem Sequenzprotokoll und/oder etwaigen dazugehörigen Tabellen - siehe Zusatzfeld betreffend das Sequenzprotokoll

3. ☐ Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:
 - ☐ Beschreibung: Seite
 - ☐ Ansprüche: Nr.
 - ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
 - ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
 - ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):
4. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der diesem Bericht beigelegten und nachstehend aufgelisteten Änderungen erstellt worden, da diese aus den im Zusatzfeld angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2 c)).
 - ☐ Beschreibung: Seite
 - ☐ Ansprüche: Nr.
 - ☐ Zeichnungen: Blatt/Abb.
 - ☐ Sequenzprotokoll (*genaue Angaben*):
 - ☐ etwaige zum Sequenzprotokoll gehörende Tabellen (*genaue Angaben*):

* Wenn Punkt 4 zutrifft, können einige oder alle dieser Blätter mit der Bemerkung "ersetzt" versehen werden.

**INTERNATIONALER VORLÄUFIGER BERICHT
ÜBER DIE PATENTIERBARKEIT**

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/052109

Feld Nr. V Begründete Feststellung nach Artikel 35 (2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung
- | | |
|--------------------------------|---------------------|
| Neuheit (N) | Ja: Ansprüche 1-11 |
| | Nein: Ansprüche |
| Erfinderische Tätigkeit (IS) | Ja: Ansprüche 1-11 |
| | Nein: Ansprüche |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-11 |
| | Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen (Regel 70.7):

siehe Beiblatt

Feld Nr. VIII Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

Zu Punkt V

Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Die in Anspruch 2 durchgeführte Änderung bringt keine Sachverhalte ein, die über den Offenbarungsgehalt der Anmeldung in ihrer ursprünglich eingereichten Form hinausgehen, und erfüllt damit die Erfordernisse von Artikel 34(2)(b) PCT.

2. Neuheit

Ansprüche 1-11 sind neu im Sinne von Artikel 33(2) PCT, da der Stand der Technik kein Verfahren offenbart, bei dem eine Agglutinationsreaktion über die Erfassung eines Signals mittels einer Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze eines Lichtkegels nachgewiesen wird.

Des weiteren offenbart der Stand der Technik keine Kits und Computerprogramcodes, die eine solche Messung ermöglichen.

3. Erfinderische Tätigkeit

- 3.1 Ansprüche 1-8 erfüllen die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.

Anspruch 1 bezieht sich auf ein Verfahren zum Nachweis geringer Partikelmengen in einer Lösung, in dem die Bildung von über Antigen-Antikörperreaktionen gebildete Partikelpräzipitate durch eine Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze eines von einem Laserstrahl erzeugten Lichtkegels bestimmt wird.

Methoden, in denen Partikelaggregation über Antigen-Antikörperbindung zur Messung eines Analyten verwendet werden, sind im Stand der Technik hinreichend bekannt (siehe Dokument US-5 534 441 (D1), und als weiteres Beispiel US-5 100 805). Optische Methoden zur Detektion der dabei gebildeten Aggregate sind ebenfalls bekannt und beinhalten Lichtstreuung und auch Transmissionsmessungen (siehe Dokument D1).

Der Gegenstand von Anspruch 1 unterscheidet sich von diesen Methoden dadurch, daß als Detektionsmethode eine Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze des

von dem Laser gebildeten Lichtkegels in der Probe vorgenommen wird.

Das Anspruch 1 zugrunde liegende Problem kann daher darin gesehen werden, eine sensitive Alternative zu den im Stand der Technik beschriebenen Methoden zur Verfügung zu stellen.

Es sind Methoden bekannt, die die Größe eines Teilchens in Lösung über die Diffusionszeit in einem kleinen Lichtkegel bestimmen. Als Beispiel sei hier die Fluoreszenz Korrelationsspektroskopie genannt (siehe D1: EIGEN M ET AL: "SORTING SINGLE MOLECULES: APPLICATION TO DIAGNOSTICS AND EVOLUTIONARY BIOTECHNOLOGY" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, Bd. 91, Juni 1994 (1994-06), Seiten 5740-5747 (D3)).

Es ist jedoch im Stand der Technik weder offenbart noch nahegelegt, die Extinktionsänderung beim Durchgang von Teilchen durch die Hell-Dunkel-Grenze eines Lichtkegels in einer Probe zu messen, um dadurch zu einer Größenmessung und damit zu einer Größenverteilung der Partikel bzw. deren Aggregaten zu kommen. Demnach ist damit ebenfalls weder offenbart noch nahegelegt, daß durch besagte Detektionstechnik eine extrem sensitive und einfach durchzuführendes Messverfahren zu Verfügung gestellt wird.

Anspruch 1 und die davon abhängigen Ansprüche 2-8 sind damit als erfinderisch im Sinne von Artikel 33(3) PCT anzusehen.

3.2 Ansprüche 9 und 10 beziehen sich auf ein Computerprogram beinhaltend Codes zur Durchführung der Methode gemäß der Ansprüche 1-8 und sind damit ebenfalls neu und erfinderisch im Sinne von Artikel 33(2) und (3) PCT.

3.3 Anspruch 11 wird als erfinderisch im Sinne von Artikel 33(3) PCT angesehen. Der Anspruch bezieht sich auf ein Kit, welches eine Vorrichtung beinhaltet, die einen Laser, eine Messkammer, und einen Photoempfänger aufweist, wobei der Photoempfänger zur Durchführung einer Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze des Lichtkegels ausgelegt ist, der bei Durchgang des vom Laser erzeugten Lichts durch die Partikel in einem Fluid enthaltende Messkammer entsteht. Gemäss der Beschreibung, Seite 3, Zeilen 8-11, wird diese Messung durch eine leicht versetzte Anordnung von Laser und Photoempfänger erreicht, die bewirkt, dass der Laserstrahl knapp am Photoempfänger vorbei geht.

Anordnungen zur Messung von Agglutinationsreaktionen über Extinktionsmessungen sind aus dem Stand der Technik bekannt.

Das Dokument US-5 534 441 (D1) offenbart eine Vorrichtung zur Detektion von immunologischen Agglutinationsreaktionen von funktionalisierten Partikeln, umfassend eine Messkammer, einen Laser Lichtquelle und einen Photomultiplier, der das durch die Probe hindurchtretende Licht mißt (siehe die im Recherchenbericht zitierte Passage). Es wird jedoch in D1 nicht eine versetzte Anordnung von Laser und Photoempfänger offenbart oder nahegelegt.

Anspruch 11 erfüllt damit die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.

4. Ansprüche 1-11 sind gewerblich anwendbar und erfüllen damit die Erfordernisse von Artikel 33(4) PCT.

Zu Punkt VIII

Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Anspruch 1 scheint nicht die Erfordernisse von Artikel 6 PCT zu erfüllen in dem die technischen Merkmale, die zur Durchführung der Methode des Anspruches nötig sind, nicht klar definiert.

Anspruch 1 bezieht sich auf die Bestimmung der Größe und der Zahl von Partikel bzw. deren Aggregate über eine Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze eines Lichtkegels in der Probe.

Abgesehen von der Messung der Extinktion und der Signalstärke des dabei erfaßten Lichtes wird in Anspruch 1 nicht darauf eingegangen, wie die Zahl und Größe der Partikel tatsächlich bestimmt wird.

Aus der Beschreibung geht zum Beispiel hervor, daß besagte Parameter aus der Transitionszeit durch den Lichtkegel bestimmt wird (Seite 11, Absatz 2).

Da Anspruch 1 die für die tatsächliche Bestimmung der oben genannten Meßgrößen nötigen technischen Merkmale nicht enthält, erfüllt er nicht die Erfordernisse von Artikel 6 PCT.

PCT-Anmeldung PCT/EP2004/052109

Anmelder / Inhaber: Odefey Constantin

Friedrich Werner

Unser Zeichen: 51962 WO (BE/BS)

Datum:

23. März 2005

Ansprüche

5

1. Verfahren zum Nachweisen von geringen Partikelmengen durch Erfassung von Antigen-Antikörper-Präzipitaten, welches umfasst:

Bereitstellen eines Probenfluids, das im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält, wobei die Partikel mindestens zwei Antikörper-Bindestellen aufweisen;

10

Bereitstellen eines Antikörper enthaltenden Fluids, das im wesentlichen Partikel einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält;

Kontaktieren des Probenfluids mit dem Antikörper enthaltenden Fluid, wobei ein Reaktionsfluid erhalten wird, wobei der Antikörper in Gegenwart eines Partikels mit mindestens zwei Antikörper-Bindestellen ein Antigen-Antikörper-Präzipitat bilden kann;

15

Führen eines Lichtstrahls durch das Reaktionsfluid;

Erfassen eines Signals mittels einer Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze des Lichtkegels, der beim Durchgang des vom Laser erzeugten Lichts durch die das Reaktionsfluid enthaltende Messkammer entsteht, durch einen Photoempfänger, wobei die Signalstärke von der Größe und Zahl der gebildeten Antigen-Antikörper-Präzipitate abhängig ist.

20

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Verfahren eine Erfassungsempfindlichkeit bis in den femto- und attomolaren Bereich aufweist.

25

3. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei der Schritt des Bereitstellens eines Probenfluids, das im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält, umfasst:

a) Bereitstellen eines Fluids,

30

Zuführen einer Probe zu dem Fluid, und

Abtrennen von Partikeln, die eine bestimmte Partikelgröße überschreiten zur Gewinnung eines Probenfluids, das im wesentlichen lediglich Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält, oder

- b) Bereitstellen eines Fluids, das im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält, und

Zuführen einer Probe zu dem Fluid, die im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält, zur Gewinnung eines Probenfluids, das im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält.

4. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei die Abtrennung der Partikel mit einer Größe oberhalb der bestimmten maximalen Partikelgröße durch Filtration erfolgt, wobei der Filter vorzugsweise eine Porengröße von 20 - 450 nm, bevorzugter von 100 - 300 nm, insbesondere von 200 nm aufweist.

5. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei als Antikörper mindestens zwei monoklonale Antikörper oder ein polyklonaler Antikörper eingesetzt werden.

6. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei der Antikörper ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Immunglobulin G oder Immunglobulin M.

7. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei das Verfahren eine quantitative oder halb-quantitative Erfassung der Partikelmenge ermöglicht.

8. Verfahren nach einem der vorstehenden Ansprüche, wobei bei konstanter Antikörperkonzentration die Abnahme des Meßsignals im direkten Zusammenhang mit der Antigenkonzentration steht.

9. Computerprogramm-Produkt, welches Programmcode-Mittel umfasst, die auf einem Computer-lesbaren Medium gespeichert sind, zur Ausführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wenn das Computerprogramm-Produkt auf einem Computer, einer

Netzwerk-Vorrichtung oder einer Vorrichtung, insbesondere einer analytischen Erfassungsvorrichtung läuft.

- 5 10. Computerprogramm-Produkt, welches einen Programmcode umfasst und von einem Server herunterladbar ist, zur Ausführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wenn das Computerprogramm-Produkt auf einem Computer, einer Netzwerk-Vorrichtung oder einer Vorrichtung, insbesondere einer analytischen Erfassungsvorrichtung läuft.
- 10 11. Kit zum qualitativen und/oder quantitativen Nachweis eines bestimmten, nachzuweisenden Partikels, wobei das bestimmte Partikel mindestens zwei Antikörper-Bindestellen aufweist, wobei der Kit umfasst:
- 15 mindestens einen Antikörper, der spezifisch an das bestimmte Partikel binden kann, und mindestens ein geeignetes Fluid zur Aufnahme der Probe, und
- 20 eine Vorrichtung zur Erfassung geringer Partikelmengen, welche aufweist:
- einen Laser,
- eine Messkammer, und
- einen Photoempfänger, der zur Durchführung einer Extinktionsmessung an der Hell-Dunkel-Grenze des Lichtkegels ausgelegt ist, der bei Durchgang des vom Laser erzeugten Lichts durch die Partikel in einem Fluid enthaltende Messkammer entsteht.

Antikörper-Komplexes erfolgt, der eine geringere Löslichkeit in dem verwendeten Lösungsmittel als das verwendete Antigen beziehungsweise der verwendete Antikörper aufweist, was zunächst zu einer Trübung des Reaktionsgemisches und anschließend zu einer Sedimentation dieses Antigen-Antikörper-Komplexes führt.

5

Das erfindungsgemäße Verfahren ermöglicht einen Nachweis von geringen Partikelmengen. Beispielsweise bei niedermolekularen Stoffen, das heißt bei Stoffen mit einem Molekulargewicht von weniger als 500 g/mol, konnte bei Verwendung des erfindungsgemäßen Verfahrens eine Nachweisgrenze im Bereich von femto- und atto-Gramm pro Liter erreicht werden, während die Nachweisgrenze bislang üblicherweise im Mikro-, Nano-, oder Picogramm-Bereich pro Liter gelegen ist. Bei Stoffen mit einem Molekulargewicht im Bereich von über 500 g/mol liegt die Nachweisgrenze höher, beispielsweise bei Stoffen mit einem Molekulargewicht von 150 000 g/mol (z.B. IgG-Antikörper) liegt die Nachweisgrenze bei etwa 300 femtog/l. Dies bedeutet, dass das Probenfluid Partikel in der Größenordnung von femto- oder atto-Mol pro Liter enthalten kann.

15

In einem ersten Teilschritt des erfindungsgemäßen Verfahrens erfolgt die Bereitstellung eines Probenfluids, das im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält. Dies kann beispielsweise auf zwei Wegen erreicht werden. Gemäß einer ersten Variante wird hierfür zunächst ein Fluid bereitgestellt, das im wesentlichen lediglich Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält und anschließend wird eine Probe, die im wesentlichen Partikel mit einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthält, zu dem Fluid zugeführt. Gemäß einer zweiten Variante kann das Probenfluid gewonnen werden, in dem zunächst ein Fluid bereitgestellt wird, eine Probe zu dem Fluid zugeführt wird und anschließend Partikel, die eine bestimmte Partikelgröße überschreiten abgetrennt werden.

25

Die maximale Partikelgröße der Partikel in dem Probenfluid beziehungsweise in den anderen Fluida, die im wesentlichen lediglich Partikel einer bestimmten maximalen Partikelgröße enthalten, kann je nach gewünschter Anwendung gewählt werden. Bei einer Verwendung vieler geläufiger Antikörper kann die Abtrennung von Partikeln erfolgen, die größer als 20 - 450 nm, bevorzugter größer als 100 - 300 nm, insbesondere größer als 200 nm sind. Eine derartige Abtrennung kann

30